

PENGARUH EKSTRAK KASAR YANG MENGANDUNG ENZIM PEROKSIDASE DARI SAWI HIJAU (*Brassica juncea*) TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK TONGKOL JAGUNG (*Zea mays* L.)

Wowor Patricia Walanda¹⁾, Edi Suryanto¹⁾, Jemmy Abidjulu¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi Fakultas MIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

The objective of this research was to study the effect of peroxidase enzymes in the greens mustard of the antioxidant activity extract corn cobs. Corn cobs extracted using reflux method for 2 hours. Peroxidase enzyme extraction of green mustard made in 4 comparison for further mixing with the corn cobs extract. The best results from the mixing, are added to the $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Determination of phytochemical content is done by calculating the total phenolic and flavonoid. Tests using the antioxidants counteract free radical DPPH and hydroxyl radical scavengers TBA at the Wistar rat liver homogenates. The Result show that the extract corn cob with the addition of a peroxidase enzyme extract green mustard increased total phenolic and flavonoid content. Similarly, the antioxidant activity with DPPH and free radical hydroxyl scavengers Wistar rat liver homogenates, had an increase in free-radical scavengers. Conclusion of the research is the addition of peroxidase enzyme extract contained in greens mustard provide increased content of total phenolics and flavonoids, also increases the antioxidant activity of the corn cob extract.

Keywords : corn cobs, green mustard, antioxidant, peroxidase enzymes.

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh enzim peroksidase dari sawi hijau (*Brassica juncea*) terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak tongkol jagung (*Zea mays* L.). Tongkol jagung diekstraksi menggunakan metode refluks selama 2 jam. Ekstraksi Enzim Peroksidase dari Sawi Hijau dibuat dalam 4 perbandingan untuk selanjutnya di lakukan pencampuran dengan ekstrak tongkol jagung. Hasil terbaik dari pencampuran, ditambahkan dengan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Penentuan kandungan fitokimia dilakukan dengan menghitung total fenolik dan flavonoid. Pengujian antioksidan menggunakan penangkal radikal bebas DPPH dan penangkal radikal hidroksil TBA pada homogenat hati tikus wistar. Ekstrak tongkol dengan penambahan ekstrak enzim peroksidase dari Sawi hijau mengalami peningkatan kandungan total fenolik dan flavonoid. Sama halnya dengan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dengan penangkal radikal hidroksil homogenat hati tikus wistar, memiliki peningkatan penangkal radikal bebas. Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa penambahan ekstrak enzim peroksidase yang terkandung dalam sawi hijau memberikan peningkatan kandungan total fenolik dan flavonoid, juga meningkatkan aktivitas antioksidan pada ekstrak tongkol jagung.

Kata kunci : tongkol jagung, sawi hijau, antioksidan, enzim peroksidase.

PENDAHULUAN

Seiring majunya kehidupan manusia dan populasi manusia yang semakin bertambah dari tahun ke tahun, lingkungan sekitar tempat manusia hidup menjadi tercemar dan pencemaran disebabkan oleh aktivitas manusia sendiri. Lingkungan yang mulai rusak ini dapat membahayakan kesehatan manusia, salah satu penyebabnya ialah terbentuknya radikal bebas yang berbahaya (Halliwell, 1991).

Antioksidan ialah molekul yang dengan mudah dapat memberikan elektronnya ke molekul radikal bebas sehingga dapat menstabilkan molekul radikal bebas dan mencegah proses oksidasi yang tidak diinginkan dalam sel. Antioksidan dapat diperoleh secara alami yang banyak terdapat dalam tanaman dan juga dapat dibeli, umumnya berupa antioksidan sintetik (Jadhav *et al.* 1996). Penggunaan senyawa antioksidan semakin berkembang baik untuk makanan maupun untuk pengobatan seiring bertambahnya pengetahuan tentang radikal bebas (Trilaksani, 2003).

Jagung merupakan bahan alam yang banyak dikonsumsi masyarakat sehingga menghasilkan limbah tongkol jagung yang banyak pula. Tongkol jagung hanya dianggap sebagai sesuatu yang tidak berguna. Kebanyakan masyarakat hanya mengambil biji jagung yang menempel di tongkol jagung, kemudian tongkol jagung dibuang atau dibakar. Padahal tongkol jagung merupakan simpanan makanan untuk pertumbuhan biji jagung selama melekat pada tongkol, maka dari itu tongkol jagung diduga memiliki senyawa-senyawa aktif yang dapat berpotensi sebagai antioksidan.

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk melihat potensi dari tongkol jagung diantaranya Lumempow *et al* (2012)

menyatakan bahwa tongkol jagung berpotensi sebagai bahan aktif tabir surya karena memiliki kandungan senyawa fenolik. Saleh *et al* (2012), ekstrak tongkol jagung memiliki potensi sebagai fitokimia antioksidan karena di dalam ekstrak terdapat senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan yaitu fenolik. Wungkana *et al* (2013) juga mengungkapkan bahwa tongkol jagung memiliki potensi sebagai antioksidan dan tabir surya dengan adanya kandungan fenolik dari fraksi etil asetat. Dari penelitian yang di lakukan oleh Suryanto *et al* (2013) ekstrak tongkol jagung memiliki potensi sebagai fitokimia dengan adanya senyawa fenolik sebagai oksigen singlet dan senyawa aktif tabir surya.

Sawi merupakan salahsatu tanaman yang kaya anti-oksidan flavonoid, indoles, sulforaphane, karoten, lutein dan zeaxanthin. Indoles, terutama di-indolyl-metana (DIM) dan sulforaphane memiliki manfaat nyata dalam melawan prostat, kanker usus, kanker payudara, dan kanker ovarium berdasarkan penghambatan pertumbuhan sel kanker, efek sitotoksik pada sel kanker, daun sawi segar juga kaya akan vitamin C dan vitamin A (Kloppenburger, 2009).

Dari penelitian sebelumnya diketahui bahwa enzim peroksidase mampu memodifikasi senyawa fenolik guaiakol (Rien, 2005), dan sekaligus dapat meningkatkan kemampuan bioaktivitasnya sebagai zat antioksidan. Dengan melihat adanya potensi yang terkandung pada tongkol jagung dan sawi hijau, pada penelitian ini hendak diteliti aktivitas antioksidan pada tongkol jagung dengan enzim peroksidase dari sawi hijau

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah erlenmeyer, vacum rotary evaporator, oven, kain katun, kertas saring, alat sentrifugasi, blender, kulkas, corong pisah, spektrofotometer, waterbath, magnetic stirrer dan alat-alat gelas lainnya.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Sayuran sawi (bagian bawah), tongkol jagung, etanol 80%, larutan bufer fosfat pH 7,0 dan pH 3,0, garam ammonium sulfat 50 %, n-butanol, hydrogen peroksida, methanol 10 %, reagen Folin Ciocalteu 50%, Natrium Karbonat 2%, aluminium klorida 2%, reagen *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH), natrium klorida, Besi (II) Sulfat, Tiobarbiturat, Trikloroasetat.

Prosedur Kerja

Persiapan Sampel

Sampel tongkol jagung yang diambil di pasar tradisional Karombasan, dibersihkan kemudian dipotong kecil-kecil lalu dihaluskan dengan cara diblender, selanjutnya dikering anginkan selama 4-5 hari.

Ekstraksi Tongkol Jagung

Sebanyak 200 gr serbuk tongkol jagung jenis *sweet corn* dimasukan kedalam labu destilat . Kemudian direfluks dengan etanol 80% sebanyak 1500 mL selama 2 jam. Filtrat hasil penyaringan dikeringkan dalam oven hingga diperoleh ekstrak kering tongkol jagung.

Ekstraksi Enzim Peroksidase dari Sawi Hijau (Thongsook, 2005)

Enzim peroksidase diambil dari sawi segar dibuat dalam 4 pebandingan

sebanyak 250 g tambahkan dengan 250 mL larutan bufer fosfat pH 7, 250 g tambahkan dengan 500 mL larutan bufer fosfat pH 7, 250 g tambahkan dengan 750 mL larutan bufer fosfat pH 7, 250 g tambahkan dengan 1000 mL larutan bufer fosfat pH 7, dihancurkan dengan cara diblender pada suhu 5 °C. Homogenat yang diperoleh disaring dengan kain katun, dan filtrat yang diperoleh disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10-15 menit untuk memisahkan enzim kasar dari serpihan-serpihan. Supernatant yang diperoleh disebut ekstrak enzim peroksidase.

Pencampuran Ekstrak Tongkol Jagung dengan Ekstrak Enzim Peroksidase dari Sawi Hijau

Sebanyak 1 gr ekstrak tongkol jagung ditambah dengan 0,5 peroksida kemudian dilarutkan lalu ditambahkan dengan enzim dari sawi sebanyak 20 mL, setelah itu ditambahkan dengan 20 mL buffer fosfat (pH 3) dan 20 mL metanol 10% lalu diaduk selama 1 jam kemudian di ekstraksi dengan menggunakan BuOH sebanyak 50 mL, dikocok dalam labu pemisah dan didiamkan selama 10-15 menit hingga terdapat 2 lapisan (enzim peroksidase pada lapisan bawah dan BuOH pada lapisan atas). Kedua lapisan yang terbentuk kemudian dipisahkan. Proses penambahan BuOH pada lapisan bawah (enzim peroksidase) yang sudah dipisahkan diulang sekali lagi. Lapisan atas BuOH yang terbentuk selama dua kali pengulangan digabungkan dan disebut sebagai ekstrak partisi butanol. Hasil ekstraksi dari n-butanol dan enzim peroksidase dari sawi diuapkan pelarutnya dan dikeringkan dalam oven hingga diperoleh ekstrak kering.

Penentuan Kandungan Total Fenolik

Kandungan total fenolik ekstrak tongkol jagung (*Zea mays* L.) ditentukan menggunakan metode Folin Ciocalteu (Conde *et al.*, 1997). Sebanyak 0,1 mL larutan ekstrak 1000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,1 mL reagen Folin Ciocalteu 50%. Campuran tersebut divortex, lalu ditambahkan 2 mL larutan natrium karbonat 2%. Selanjutnya campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansinya dibaca pada panjang gelombang 750 nm dengan spektrofotometer. Kandungan total fenol dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat/kg ekstrak.

Penentuan Penangkal Radikal Bebas DPPH

Aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (Molyneux, 2004) dengan sedikit modifikasi, yaitu mereaksikan reagen *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) sebanyak 5 mL dengan masing-masing sampel tongkol jagung yang diencerkan terlebih dahulu sebanyak 1000 kali, dengan enzim peroksidase dari sawi sebanyak 1 mL. Larutan diukur dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 517 nm, diamati selama selang waktu 5 menit selama 30 menit. Kemampuan aktivitas antioksidan dihitung dengan persamaan :

$$\text{Aktivitas penangkal radikal bebas (\%)} = 1 - \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi control}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Tongkol Jagung

Tongkol jagung diekstraksi dengan pelarut etanol 80% dengan cara refluks yang biasanya umum dilakukan untuk mengekstraksi sampel tumbuhan. Tongkol

Jagung ditimbang sebanyak 200 g lalu direfluks dengan menggunakan pelarut etanol 80%, setelah itu selama 2 jam pada suhu 78-90 °C, sampel disaring dengan menggunakan vacuum. Kemudian filtratnya dievaporasi untuk memisahkan ekstrak dan pelarutnya. Ekstrak yang telah terpisah dari pelarut dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C sampai ekstrak kering. Setelah kering ekstrak dikeruk dan ditempatkan didalam wadah.

Rendemen yang diperoleh dari hasil ekstraksi 200 g tongkol jagung dengan pelarut etanol 80% sebanyak 1500 mL dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen hasil ekstrak kering tongkol jagung

Sampel	Berat (g)	Rendemen (%)
200	7,21	3.61
200	6.21	3.11

Berdasarkan Tabel 1, dapat diketahui bahwa rendemen pada ekstrak tongkol jagung dengan pelarut etanol 80 % sebanyak (3.61%) dan (3,11%). Harborne (1983) menyatakan bahwa komponen fenolik dapat diekstraksi dari bahan tumbuhan dengan menggunakan pelarut polar seperti air, etanol, metanol dan aseton. Penggunaan etanol sebagai pelarut membuat senyawa fenolik dalam tongkol jagung terekstraksi, karena senyawa polar melarutkan yang polar.

Ekstraksi ekstrak enzim peroksidase dari sawi hijau

Ekstrak enzim peroksidase diperoleh dari sawi hijau dibuat dalam 4 pebandingan, Bagian yang digunakan sebagai sumber enzim peroksidase adalah bagian bawah sawi yang tidak terpakai.

Tahap pertama yang dilakukan pada ekstraksi enzim peroksidase adalah menghancurkan potongan sawi hijau yang ditambahkan dengan larutan buffer fosfat

pH 7,0 dengan menggunakan blender. Hal ini dilakukan untuk mengekstrak peroksidase yang ada dalam sawi hijau. Homogenat yang diperoleh kemudian disaring dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh dipisahkan dari endapannya.

Tahap selanjutnya dilakukan dengan mencampurkan ekstrak tongkol jagung dengan ekstrak enzim peroksidase dari sawi hijau, 1 g ekstrak tongkol jagung ditambah dengan 0,5 peroksida 30% yang dilarutkan kemudian ditambahkan dengan 20 mL enzim dari sawi hasil dari ekstraksi enzim peroksidase dari sawi hijau setelah itu didiamkan selama 1 jam di dalam kulkas / pendingin. yang selanjutnya ditambahkan dengan 20 mL methanol 10% dan 20 mL buffer fosfat (pH 3) kemudian di ekstrak lebih lanjut dengan menggunakan butanol. Rendemen yang diperoleh dapat dilihat pada table 2.

Tabel. 2 Rendemen hasil ekstrak kering enzim peroksidase dari sawi + tongkol jagung

Perbandingan	Berat (g)	Rendemen (%)
(P1)	2.06	0.83
(P2)	1.43	0.57
(P3)	1.41	0.56
(P4)	2.47	0.99

Rendemen terbanyak terdapat pada perbandingan 1:4 dengan penambahan 1000 mL Buffer fosfat, diikuti dengan 1:1, 1:2, dan selanjutnya 1:3. Banyaknya rendemen yang didapatkan dikarenakan peran enzim peroksidase yang meningkatkan aktivitas antioksidan pada ekstrak tongkol jagung dalam n-butanol. Kinerja enzimatis juga dipengaruhi oleh beberapa hal diantaranya konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, suhu, pH dan inhibitor.

Penentuan Kandungan total Fenolik dan Flavonoid

Hasil ekstraksi tongkol jagung dengan enzim peroksidase 4 perbandingan dibuat dalam konsentrasi 1000 ppm kemudian di uji kandungan total fenolik. Hasil analisis kandungan total fenolik yang diperoleh pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 3

Tabel 3. Kandungan total fenolik

Jenis Ekstrak 1000 ppm	Fenolik (mg/kg)
ETJ	41,32
P1	65,20
P2	63,16
P3	59,08
P4	72,96

Ket : ETJ = Ekstrak tongkol jagung,
1:1 = Perbandingan 1,
1:2 = Perbandingan 2,
1:3 = Perbandingan 3,
1:4 = Perbandingan 4,

Berdasarkan tabel 3 diatas, dapat diketahui bahwa ekstrak tongkol jagung dengan enzim peroksidase dari sawi memiliki kandungan total fenolik yang paling tinggi pada perbandingan 4 (72,95 mg/kg), diikuti Perbandingan 1 (65,2 mg/kg), Perbandingan 2 (63,16 mg/kg), Perbandingan 3 (59,08 mg/kg). Semua kandungan total fenolik dengan penambahan enzim lebih tinggi dari pada kandungan total fenol pada tongkol jagung yaitu 41,32 mg/kg

Kandungan total fenolik dalam sampel ditentukan berdasarkan kemampuan senyawa fenolik dalam tongkol jagung, bereaksi dengan asam fosfomolibdat-fosfotungstat dalam reagen Folin-Ciocalteu yang berwarna kuning dan akan berubah menjadi warna biru. Semakin tua intensitas warnanya menandakan semakin tingginya kandungan

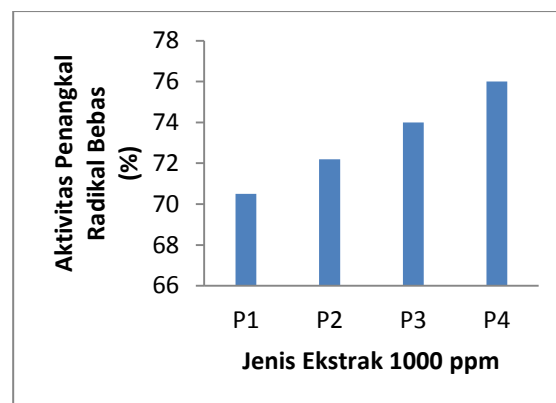
total fenol di dalam ekstrak (Shahidi dan Naczki, 1995).

Aktivitas Penangkal Radikal Bebas DPPH

Aktivitas antioksidan dari ekstrak tongkol jagung dilakukan dengan metode penangkal radikal bebas DPPH. Prinsip metode penangkapan radikal adalah pengukuran penangkapan radikal bebas sintetik dalam pelarut organik polar seperti etanol pada suhu kamar oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan. Proses penangkapan radikal bebas ini melalui mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas sehingga radikal bebas menangkap satu elektron dari antioksidan. Radikal bebas sintetik yang digunakan DPPH. Senyawa DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron (Pokorny *et al.*, 2001).

Senyawa yang bereaksi sebagai penangkal radikal bebas akan mereduksi DPPH yang dapat diamati dengan adanya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning ketika elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkal radikal bebas yang akan membentuk DPPH-H tereduksi (Molyneux, 2004).

Aktivitas penangkal radikal bebas menggunakan uji DPPH pada konsentrasi 1000 ppm dapat dilihat pada gambar 1 dibawah :



Gambar 1. Aktivitas penangkal radikal bebas DPPH

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada gambar 1, maka dapat diketahui bahwa ekstrak tongkol jagung dengan penambahan enzim dari sawi dengan ammonium sulfat memiliki kemampuan penangkal radikal bebas yang paling tinggi pada perbandingan 4 (76%), Perbandingan 3 (74%), Perbandingan 2 (72,2%), dan Perbandingan 1 (70,5%). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tongkol jagung memiliki kemampuan yang baik dalam menangkal radikal bebas.

Fraksinasi ekstrak enzim peroksidase dengan Ammonium sulfat

Berdasarkan semua pengujian yang telah dilakukan, didapatkan bahwa penambahan ekstrak enzim peroksidase dari sawi hijau pada perbandingan 4 memiliki hasil yang paling baik, untuk dilanjutkan dengan penggunaan garam ammonium sulfat yang di tambahkan pada perbandingan 4. Garam ini dipilih karena memiliki beberapa kelebihan yaitu kelarutannya yang tinggi, memiliki kemampuan pengendapan yang tinggi dan juga memiliki efek denaturasi terhadap protein yang rendah. Penambahan garam ini bertujuan untuk mengendapkan enzim berdasarkan berat molekulnya.

Penambahan ammonium sulfat dengan jumlah 0-30% akan dapat mengendapkan protein enzim dengan berat

molekul yang besar. Sehingga dapat diperoleh enzim yang murni. Selanjutnya endapat yang diperoleh disuspensikan kembali dengan buffer fosfat pH 7,0 dan di ekstraksi dengan menggunakan Butanol menghasilkan rendemen sebesar 0,84 %. Kemudian diuji kandungan total fenolik, flavonoid, aktivitas penangkal radikal bebas dengan DPPH dan penangkal radikal hidroksil pada hati tikus wistar. Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Fraksinasi ekstrak enzim peroksidase dengan penambahan ammonium sulfat

Ekstrak 1000 ppm	Fenolik (mg/kg)	DPPH (%)
P4	72,96	76
FE	130,51	86,3

Ket : P4 = Perbandingan 4
FE = Fraksi Enzim pada
perbandingan 4 + Ammonium sulfat

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa penambahan ammonium sulfat pada perbandingan 4 mengalami peningkatan. Peningkatan tersebut diduga karena adanya endapan pada garam ammonium sulfat dapat menggandakan enzim peroksidase dalam sawi hijau.

KESIMPULAN

Berdasarkan pada hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa, penambahan enzim peroksidase dari sawi memberikan peningkatan aktivitas antioksidan terhadap ekstrak tongkol jagung yang diuji dengan metode DPPH dan Penangkal radikal hidroksil yang masing-masing memberikan hasil P1 (70,5%), P2 (72,2%), P3 (74%), P4 (76%) dan yang tertinggi Fraksi Enzim 1:4 dengan penambahan ammonium sulfat (86,3%) untuk DPPH sama halnya dengan Penangkal Radikal Hidroksil yang memberikan hasil tertinggi pada Fraksi enzim 1:4 dengan penambahan ammonium

sulfat (67,2%), diikuti oleh P4 (62,4%), P3 (55), P2 (53), dan P1 (50,8) peningkatan tersebut disebabkan meningkatnya kandungan total fenolik dan flavonoid yang terdapat dalam ekstrak.

DAFTAR PUSTAKA

Conde, E.E., M.C. Cadahia, G. Vallejo, B.F.D. Simon and J.R.G. Adrados. 1997. Low Molecular Weight Polyphenol in Cork of *Quercus Suber*. *J. Agric Food Chem.* 45: 2695-2700.

Halliwell B dan Gutteridge C. 1999. *Free Radical in Biology and Medicine*. Oxford University Press, New York.

Jadhav, S.J., Nimbalkar, S.S., Kulkarni, A.D & Mahdavi, D.L. 1996. Lipid Oxidation in Biological and Food Systems. Dalam D.L. Madhavi, S.S. Deshpande and D.K Salunkhe (eds). *Food Antioxidants Technological, Toxicological, and Health perspectives*. Marcel Dekker, Inc, New York.

Kloppenburger, 2009. *Petunjuk Lengkap mengenai Tanam-tanaman di Indonesia dan Khasiatnya sebagai Obat-obatan Tradisional*. Yogyakarta : Yayasan Dana Sejahtera.

Lomempuow, L.I., J. Paendong., L.I. Momuat., dan E. Suryanto. 2012. Potensi Antioksidan dari Ekstrak Etanol Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Chem Prog.* 5: 49-56.

Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl

(DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26: 211-219.

Pokorny, J., N. Yanishlieva, and M. Gordon. 2001. *Antioxidant in Food : Practical Application*. CRC Pres. Boca Raton, Coston, New York, Washington, Dc. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England.

Saleh, L.P., E. Suryanto., A. Yudistira. 2012. Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays*L.). *Pharmacon*.1: 20-24.

Suryanto, E., L.I. Momuat., A. Yudistira., F. Wehantouw. 2013. The Evaluation Of Singlet Oxygen Quenching and Sunscreen Activity Of Corn cob Extract. *Indonesian J. Pharm*. 4:269-278

Thongsook, T., dan Barrett, D. M. 2005. Purification and Characterization of Broccoli (*Brassica oleracea* Var. *italica*) Peroxidases. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 3206-3214.

Trilaksani, W. (2003). *Antioksidan : Jenis, sumber, mekanisme kerja dan peran terhadap kesehatan*. Bogor : Institut Pertanian Bogor.